

DE4010228

Publication Title:

Prepn. of antiviral, esp. anti-AIDS agent - by mixing halo-contg. higher alkyl-glycerol-phospho-choline analogues with suitable carrier

Abstract:

The prepn. of an agent for use against viral infections, esp. against AIDS comprises mixing halo-contg. alkyl glycerol phosphocholine analogues of formula (I), (II) or (III) with pharmaceutically acceptable carriers and/or auxiliaries. R = 6-30C alkyl; Y = Cl, Fa or OCH₂CF₃. USE/ADVANTAGE - The agent can be used to treat viral infections, esp. AIDS, avoiding the problems (such as cytotoxic side effects, thrombocyte aggregation, reduction in blood pressure) etc. associated with previous anti-HIV therapeutics and anti-HIV phospholipids.

Data supplied from the esp@cenet database - <http://ep.espacenet.com>



⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 40 10 228 A 1**

⑤① Int. Cl.⁵:
A 61 K 31/685

②① Aktenzeichen: P 40 10 228.9
②② Anmeldetag: 30. 3. 90
②③ Offenlegungstag: 2. 10. 91

DE 40 10 228 A 1

⑦① Anmelder:

Müller, Werner E. G., Prof. Dr., 6200 Wiesbaden, DE;
Brachwitz, Hans, Dr., O-1071 Berlin, DE; Matthes,
Eckart, Dr.; Langen, Peter, Prof. Dr., O-1115 Berlin,
DE

⑦② Erfinder:

gleich Anmelder

⑤④ Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen virale Infektionen, vorzugsweise gegen AIDS

⑤⑦ Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen virale Infektionen, vorzugsweise gegen AIDS. Anwendungsgebiet ist die pharmazeutische Industrie. Erfindungsgemäß werden Alkylglycerophosphocholin-Analoga der allgemeinen Formel I, II oder III mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern und/oder Hilfsstoffen vermischt.



I

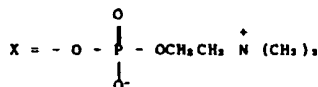


II



III

R = Alkyl mit 6 bis 30 C-Atomen



Y = Cl, F, OCH₂CF₃.

DE 40 10 228 A 1

Beschreibung

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Mittels gegen virale Infektionen, vorzugsweise gegen AIDS. Das Anwendungsgebiet liegt in der chemischen und pharmazeutischen Industrie.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es existieren gegenwärtig auf dem Gebiet der antiviralen Chemotherapie wenige Arzneimittel, welche eine erforderlichlich hohe Selektivität besitzen. In vielen Fällen gelingt es nur unzureichend, die Virusvermehrung zu verhindern, ohne gleichzeitig auch die Teilungsfähigkeit der Wirtszelle zu beeinträchtigen. Das trifft auch für die zur antiviralen Chemotherapie von AIDS eingesetzten Mittel zu, wie z. B. das AZT und andere Nucleoside, die zwar die Vermehrung des verursachenden HIV (human immunodeficiency virus) verhindern, darüber hinaus aber zu unerwünschten cytotoxischen Nebenwirkungen führen.

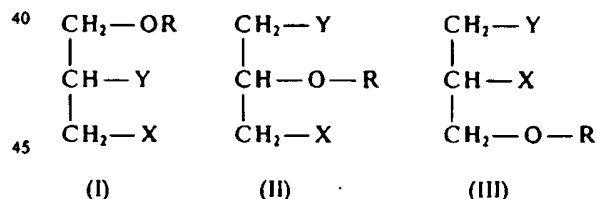
Kürzlich wurden Hinweise auf eine HIV-Wirksamkeit von 1-O-Octadecyl-2-O-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin (Et-18-OCH₃) bekannt [Kucera, L., Iyer, N., Raben, A., Modest, E., Daniel, L. und Piantadosi, C., Proc. 5. Intern. Conf. on AIDS (Montreal), Abstr. W.C.O. 21]. Verbindungen dieses Typs sind in struktureller Hinsicht dem sogenannten Thrombozyten-aktivierenden Faktor (PAF), einem von verschiedenen Zellen gebildeten, physiologisch hochaktiven Phospholipid, ähnlich. PAF bewirkt bereits in Konzentrationen von 10⁻⁷ bis 10⁻¹¹ M Thrombozytenaggregation, Blutdrucksenkung, Serotoninausschüttung u. a., das heißt, Alkylglycero-phosphocholin-Analoga sind, sofern sie wesentliche PAF-Wirkung aufweisen, für therapeutische Zwecke ungeeignet. ET-18-OCH₃ sowie auch die Strukturisomeren dieser Verbindung zeigen eine nicht unbeträchtliche PAF-Wirkung [Ostermann, G., Kertscher, H.-P., Lang, A., Till, U., Thrombosis Research 43 (1986), 675—680], vgl. Tabelle 2.

Ziel der Erfindung

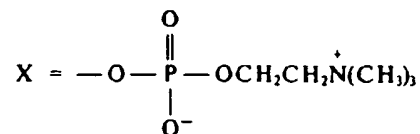
Die Erfindung hat das Ziel, ein Verfahren zur Herstellung eines geeigneten, technisch nutzbaren Mittels gegen virale Infektionen, vorzugsweise gegen AIDS, auf der Basis von Phospholipiden zu entwickeln, die die Nachteile der bisher bekannten anti-HIV-wirksamen Phospholipide nicht aufweisen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein entsprechendes pharmazeutisches Mittel bereitzustellen. Es wurde nun gefunden, daß halogenhaltige Alkylglycerophosphocholine-Analoga der allgemeinen Formeln I, II oder III



in denen R = Alkyl mit 6 bis 30 C-Atomen,



(Phosphocholin-Rest) und

Y = Cl, F, OCH₂CF₃

bedeuten, anti-HIV-Wirksamkeit bei äußerst geringer PAF-Wirkung aufweisen. Erfindungsgemäß wird das pharmazeutische Mittel hergestellt, indem man diese Verbindungen mit üblichen pharmazeutisch annehmbaren Trägern und Hilfsstoffen vermischt. Vorzugsweise wird der Wirkstoff in DMSO zu einer 2mM Lösung aufgenommen und so verarbeitet, daß das Mittel als Dosiseinheit vorliegt und systemisch, also oral oder parenteral (intramuskulär, intravenös und subcutan) als solches oder in Kombination mit anderen antiviral wirksamen Mitteln verabreicht werden kann. Zur oralen Verabreichung liegt das Mittel in flüssiger Form, beispielsweise als wäßrige oder ölige Suspension, Sirup, Elixier, Lösung oder mit Flüssigkeit gefüllte Kapseln vor.

Mittel zur parenteralen Verabreichung liegen im allgemeinen in Form einer Lösung oder Suspension der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindung zusammen mit üblichen pharmazeutischen Trägern

vor, beispielsweise in Form einer wäßrigen Lösung für intravenöse Injektion oder einer öligen Suspension für die intramuskuläre Injektion. Zur parenteralen Verabreichung geeignete Mittel erhält man, indem man 0,1 bis 10 Gew.-% der erfindungsgemäßen Verbindung in Wasser oder einem Träger, der aus einem aliphatischen Polyalkohol, wie Glycerin, Propylenglykol oder Polyäthylenglykolen oder einer Mischung davon besteht, löst. Die Polyäthylenglykole bestehen aus einer Mischung nicht flüchtiger, gewöhnlich flüssiger Polyäthylenglykole, die sowohl in Wasser als auch in organischen Flüssigkeiten löslich sind und deren Molekulargewichte von 200 bis 1500 reichen.

Die Herstellung der pharmazeutischen Mittel erfolgt anhand üblicher Verfahren, beispielsweise durch Sterilfiltration und Abfüllen in Ampullen oder Tropfflaschen einer Lösung der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindung in Injektionswasser zusammen mit üblichen Zusätzen, wie Natriumchlorid, Natriumhydrogenphosphat, Dinatrium-EDTA (Ethylendiaminetetraessigsäuredinatriumsalz), Benzylalkohol oder Natriumhydroxid zur Einstellung des pH.

Die Dauer der Behandlung richtet sich nach Art und Schwere der Erkrankung. Sie erstreckt sich im allgemeinen über mehrere Wochen. Zweckmäßig ist auch die Therapie in Kombination mit weiteren antiviral wirksamen Mitteln. Die erfindungsgemäß eingesetzten Verbindungen werden nach an sich bekannten Verfahren hergestellt [Brachwitz, H., Langen, P., Hintsche, R., Schildt, J., Chem. Phys. Lipids 31 (1982), 33–52; Brachwitz, H., Langen, P., Schildt, J., ebenda 34 (1984), 355–362; Brachwitz, H., Langen, P., Hintsche, R., Schildt, J., ebenda 36 (1984) 137–152].

Testung auf anti-HIV-Wirksamkeit

5×10^5 H9-Zellen wurden mit 2×10^7 HIV-1-Partikeln infiziert und die Verbindungen 5 Stunden später zugesetzt. Nach 4tägiger Kultivierung wurde ihr Einfluß auf den HIV-induzierten cytopathischen Effekt (CPE), auf die Produktion der HIV-Proteine p15 und p24 sowie auf die Aktivität der reversen Transcriptase (RT) untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 wiedergegeben. Außerdem wurde die Proteinkinase-C-Aktivität gemessen.

Tabelle 1

Anti-HIV-Wirkung der beschriebenen Mittel

Zellzahl in der uninfizierten Kontrolle = $22,4 \pm 3,7 \times 10^5/\text{ml}$

Zellzahl in der infizierten Kontrolle = $5,9 \pm 1,2 \times 10^5/\text{ml}$

Daraus folgend die Zahl der HIV-zerstörten Zellen = $16,5 \times 10^5/\text{ml}$

Verbindung	Konzentration (μM)	% Hemmung CPE	RT	p15	p24
2-Chlor-1-desoxy-1-O-hexadecyl-rac-glycero-3-phosphocholin	1	33	57	36	26
	3	81	89	85	76
	10	17	61	65	62
1-Chlor-1-desoxy-3-O-hexadecyl-rac-glycero-2-phosphocholin	1	10	76	53	31
	3	79	83	82	72
	10	45	81	78	76
1-Chlor-1-desoxy-rac-2-O-hexadecyl-glycero-3-phosphocholin	1	40	71	62	57
	3	93	86	86	85
	10	72	74	81	88

Die Konzentrationen der Verbindungen, die eine 50%ige Zerstörung der Zellen verursachen, liegen etwa 10fach höher als diejenigen ($3 \mu\text{M}$), die einen 80- bis 100%igen Schutz gegen die Zellzerstörung durch HIV geben. Die Protein-Kinase C-Hemmung war bei $3 \mu\text{M}$ etwa 50%.

PAF-Wirkung

Alkylglycerophosphocholine sind Strukturanalogue des PAF (platelet activating factor), welches eine physiologisch hochaktive Verbindung darstellt. PAF-Analogue, die eine wesentlich PAF-Wirkung aufweisen, sind für eine therapeutische Anwendung nicht geeignet. Es war nun ein überraschender Befund, daß Alkylglycerophosphocholine, deren Struktur durch Einführung eines Halogensubstituenten modifiziert ist und die die allgemeinen Formeln I und II besitzen, nur noch eine untergeordnete PAF-Wirkung zeigen. Halogenhaltige Alkylglycerocholine, die zudem noch eine unnatürliche Anordnung der Phosphocholingruppierung im Molekül, z. B. in 2-Stellung des Glycerolteils (allgemeine Formel III), besitzen, weisen praktisch keine wesentliche PAF-Wirkung mehr auf. Diese Befunde sind für eine therapeutische Anwendung, insbesondere für eine länger andauernde AIDS-Therapie, von außerordentlicher Bedeutung. Die Verbindungen der allgemeinen Formeln I, II und III sind deshalb für die Bereitung und Anwendung als anti-HIV-Präparate in besonderem Maße geeignet.

Aus Tabelle 2 ist die geringere PAF-Wirkung (Aggregation von Kanincenthrombozyten) einiger halogenhal-

tiger Alkylglycerophosphocholin-Analoge im Vergleich zu Et-18-OCH₃ und seiner Strukturisomeren ersichtlich.

Tabelle 2

5 Relative PAF-Wirkung (Aggregation von Kanincenthrombozyten) einiger
Alkylglycerophosphocholin-Analoge, bezogen auf PAF (= 100%); zur Methode siehe Ostermann, G., et al.,
Thrombosis Research 43 (1986), 675—680

10	Strukturformel	Wirkung (%)	Strukturformel	Wirkung (%)
15	$\begin{array}{l} \text{O—R} \\ \\ \text{O—CH}_3 \quad (\text{Et-18-OCH}_3) \\ \\ \text{X} \end{array}$	0,17	$\begin{array}{l} \text{Cl} \\ \\ \text{O—R} \\ \\ \text{X} \end{array}$	0,029
20	$\begin{array}{l} \text{O—CH}_3 \\ \\ \text{X} \\ \\ \text{O—R} \end{array}$	0,42	$\begin{array}{l} \text{Cl} \\ \\ \text{X} \\ \\ \text{O—R} \end{array}$	< 0,003
25				
30	$\begin{array}{l} \text{O—CH}_3 \\ \\ \text{O—R} \\ \\ \text{X} \end{array}$	2,17	$\begin{array}{l} \text{O—CH}_2\text{CF}_3 \\ \\ \text{O—R} \\ \\ \text{X} \end{array}$	0,036
35	$\begin{array}{l} \text{O—R} \\ \\ \text{F} \\ \\ \text{X} \end{array}$	0,018	$\begin{array}{l} \text{O—CH}_2\text{CF}_3 \\ \\ \text{X} \\ \\ \text{O—R} \end{array}$	0,003
40	$\begin{array}{l} \text{O—R} \\ \\ \text{Cl} \\ \\ \text{X} \end{array}$	0,021	$\text{R} = \text{—C}_{16}\text{H}_{33}$ $\text{X} = \text{—OP(O)OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{O}^-$	
45				

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Flüssige orale Formulierung

55	Wirkstoff	2 g
	Saccharose	250 g
	Glucose	300 g
	d-Sorbit	150 g
60	Agar-agar	0,15 g
	Methylparaben	0,5 g
	Propylparaben	0,05 g
	Geschmacksstoff (Orange)	10 g
	Tartazin gelb	
65	Gereinigtes Wasser auf	1000 ml

Beispiel 2

Flüssige orale Formulierung

Wirkstoff	2 g	5
Tragacanth	7 g	
Glycerin	50 g	
Saccharose	400 g	
Methalparabren	0,5 g	
Propylparabren	0,05 g	10
Geschmacksstoff (Geschmack von schwarzer Johannisbeere)		
Roter Farbstoff No. 2C.E.184	0,02 g	
Gereinigtes Wasser auf	1000 ml	15

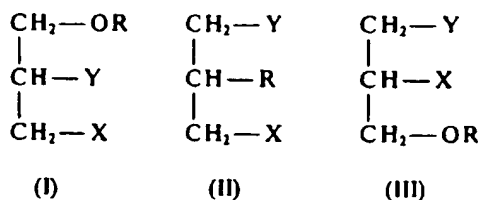
Beispiel 3

Flüssige orale Formulierung

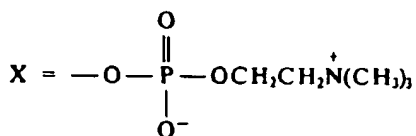
Wirkstoff	2,4 g	20
Saccharose	400 g	
Tinktur von Bitterorangenschalen	20 g	
Tinktur von Süßorangenschalen	15 g	25
Gereinigtes Wasser auf	1000 ml	

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen virale Infektionen, vorzugsweise gegen AIDS, dadurch gekennzeichnet, daß man halogenhaltige Alkylglycerolphosphocholin-Analoga der Formel I, II oder III



worin R = Alkyl mit 6 bis 30 C-Atomen,



und

Y = Cl, F, OCH₂CF₃

bedeuten, mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern und/oder Hilfsstoffen vermischt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man die Verbindungen der Formel I, II oder III in DMSO löst.

— Leerseite —